

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

IN RE APPLICATION OF: Hiroshi HAGINO

GAU:

SERIAL NO: New Application

EXAMINER:

FILED: Herewith

FOR: VASODILATOR PHARMACEUTICAL PREPARATION AND HEALTH FOOD COMPOSITION

REQUEST FOR PRIORITY

COMMISSIONER FOR PATENTS  
ALEXANDRIA, VIRGINIA 22313

SIR:

☐ Full benefit of the filing date of U.S. Application Serial Number , filed , is claimed pursuant to the provisions of 35 U.S.C. §120.

☐ Full benefit of the filing date(s) of U.S. Provisional Application(s) is claimed pursuant to the provisions of 35 U.S.C. §119(e): Application No. Date Filed

☒ Applicants claim any right to priority from any earlier filed applications to which they may be entitled pursuant to the provisions of 35 U.S.C. §119, as noted below.

In the matter of the above-identified application for patent, notice is hereby given that the applicants claim as priority:

COUNTRY

Japan

APPLICATION NUMBER

2003-035063

MONTH/DAY/YEAR

February 13, 2003

Certified copies of the corresponding Convention Application(s)

☒ are submitted herewith

☐ will be submitted prior to payment of the Final Fee

☐ were filed in prior application Serial No. filed

☐ were submitted to the International Bureau in PCT Application Number

Receipt of the certified copies by the International Bureau in a timely manner under PCT Rule 17.1(a) has been acknowledged as evidenced by the attached PCT/IB/304.

☐ (A) Application Serial No.(s) were filed in prior application Serial No. filed ; and

☐ (B) Application Serial No.(s)

☐ are submitted herewith

☐ will be submitted prior to payment of the Final Fee

Respectfully Submitted,

OBLON, SPIVAK, McCLELLAND,  
MAIER & NEUSTADT, P.C.



Norman F. Oblon

Registration No. 24,618

C. Irvin McClelland  
Registration Number 21,124

Customer Number

22850

Tel. (703) 413-3000  
Fax. (703) 413-2220  
(OSMMN 05/03)

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日                      2 0 0 3 年    2 月 1 3 日  
Date of Application:

出 願 番 号                      特 願 2 0 0 3 - 0 3 5 0 6 3  
Application Number:  
[ST. 10/C] :                      [ J P 2 0 0 3 - 0 3 5 0 6 3 ]

出      願      人                      株式会社白子  
Applicant(s):

2 0 0 3 年 1 0 月 2 0 日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

今 井 康 夫



出証番号    出証特 2 0 0 3 - 3 0 8 6 2 1 3

【書類名】 特許願

【整理番号】 SI03-1

【提出日】 平成15年 2月13日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 A61K 38/00

【発明の名称】 血管拡張性医薬及び健康食品組成物

【請求項の数】 12

【発明者】

    【住所又は居所】 東京都目黒区柿の木坂 2 - 2 9 - 7

    【氏名】 萩野 浩志

【特許出願人】

    【識別番号】 391017986

    【氏名又は名称】 株式会社 白子

【代理人】

    【識別番号】 100087332

    【弁理士】

    【氏名又は名称】 猪股 祥晃

    【電話番号】 03-3501-6058

【選任した代理人】

    【識別番号】 100081189

    【弁理士】

    【氏名又は名称】 猪股 弘子

    【電話番号】 03-3501-6058

【手数料の表示】

    【予納台帳番号】 012760

    【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

    【物件名】 明細書 1

    【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9108899

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 血管拡張性医薬及び健康食品組成物

【特許請求の範囲】

【請求項1】 海苔、ワカメ、ヒジキ、コンブ、クロレラ、スピルリナから選ばれた海藻由来のタンパク質を加水分解して得られるペプチドを有効成分とする血管拡張性医薬組成物。

【請求項2】 海苔、ワカメ、ヒジキ、コンブ、クロレラ、スピルリナから選ばれた海藻由来のタンパク質を加水分解して得られるペプチドを有効成分とする血管拡張性健康食品組成物。

【請求項3】 大豆、胡麻から選ばれた植物由来のタンパク質を加水分解して得られるペプチドを有効成分とする血管拡張性医薬組成物。

【請求項4】 大豆、胡麻から選ばれた植物由来のタンパク質を加水分解して得られるペプチドを有効成分とする血管拡張性健康食品組成物。

【請求項5】 カツオ、サバ、サンマ、アジから選ばれた魚類由来のタンパク質を加水分解して得られるペプチドを有効成分とする血管拡張性医薬組成物。

【請求項6】 カツオ、サバ、サンマ、アジから選ばれた魚類由来のタンパク質を加水分解して得られるペプチドを有効成分とする血管拡張性健康食品組成物。

【請求項7】 脱脂粉乳、ホエーから選ばれた各種ミルクタンパク由来のタンパク質を加水分解して得られるペプチドを有効成分とする血管拡張性医薬組成物。

【請求項8】 脱脂粉乳、ホエーから選ばれた各種ミルクタンパク由来のタンパク質を加水分解して得られるペプチドを有効成分とする血管拡張性健康食品組成物。

【請求項9】 牛、豚、から選ばれた動物由来のタンパク質を加水分解して得られるペプチドを有効成分とする血管拡張性医薬組成物。

【請求項10】 牛、豚、から選ばれた動物由来のタンパク質を加水分解して得られるペプチドを有効成分とする血管拡張性健康食品組成物。

【請求項11】 牛各部コラーゲン、豚皮コラーゲン、魚鱗由来のコラーゲ

ン様タンパク質を加水分解して得られるペプチドを有効成分とする血管拡張性医薬組成物。

【請求項 1 2】 牛各部コラーゲン、豚皮コラーゲン、魚鱗由来のコラーゲン様タンパク質を加水分解して得られるペプチドを有効成分とする血管拡張性健康食品組成物。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

本発明は、血管拡張作用を有し、それにより肩凝り、頭痛、冷え症およびそれに関連する機態低下症状を抑制、改善することができる医薬および健康食品組成物に関し、さらに詳しくは、各種タンパク質を加水分解して得られたペプチドを有効成分とする上記医薬および健康食品組成物に関する。

【0 0 0 2】

【従来の技術】

血液循環を改善することは、肩凝り、冷え性、頭痛、手足のしびれなどの症状の改善、疲労回復、末端組織および毛髪の新陳代謝の促進に繋がる。血液循環の改善により、全体としては末端組織に酸素、栄養が十分行き渡り、炭酸ガス、乳酸など老廃物が回収され、入浴後のような心地よい状態になり、身体が温まり、疲労、神経痛、更年期障害が解消するなどの症状が改善される。

【0 0 0 3】

血流を促進するメカニズムは幾つかある。一つは赤血球の変形能向上による血液流動性の増加であり、もう一つは血管を拡張することによる血流量の増加である。前者に関する従来技術としては、例えばナツメおよびその抽出物により赤血球の変形能低下を防止するものがあり(特許文献 1 および特許文献 2 参照)、また、赤血球、白血球、血小板など血液成分の粘性を下げ、血液流動性を改善するコラーゲンペプチドに関する報告もある(特許文献 3 参照)。

【0 0 0 4】

また、次のような各種天然物またはその抽出物による血流改善効果の報告があるが、その血流改善のメカニズムについては必ずしも明確ではない。例えば、サ

フランまたはサフランの抽出物(特許文献 4 参照)、タンポポとヨモギのエキス(特許文献 5 参照)、牛の内臓と骨を粥状に煮沸したもの(特許文献 6 参照)、蓮根の節と根毛の焼焦物(特許文献 7 参照)、ムラサキサツマイモの水溶性抽出物(特許文献 8 参照)、テアニン含有物(特許文献 9 参照)、地黄(特許文献 1 0 参照)、イヌゴマのサポニン(特許文献 1 1 参照)の例が知られている。

#### 【 0 0 0 5 】

また、血管拡張の認められた例としてはウサギの耳の血管をイワシ筋肉由来ペプチドが拡張することが報告されている(特許文献 1 2 参照)。しかし、現象面だけの報告であって、人に対する有効例の報告や用途については記載されていない。

近年、種々の血流改善メカニズムによる血流改善物質の更なる開発が求められている。

#### 【 0 0 0 6 】

##### 【特許文献 1】

特開平 0 5 - 2 1 0 6 3 9 号公報

##### 【特許文献 2】

特開平 0 7 - 6 1 9 3 3 号公報

##### 【特許文献 3】

特許第 3 1 9 7 5 4 7 号明細書

##### 【特許文献 4】

特開平 1 0 - 2 8 7 5 7 6 号公報

##### 【特許文献 5】

特開昭 6 0 - 1 6 0 8 5 6 号公報

##### 【特許文献 6】

特開昭 5 4 - 4 1 3 5 4 号公報

##### 【特許文献 7】

特開昭 5 3 - 1 3 3 6 4 6 号公報

##### 【特許文献 8】

特開 2 0 0 1 - 1 4 5 4 7 1 号公報

## 【特許文献 9】

特開 2000-247878 号公報

## 【特許文献 10】

特開 2000-169385 号公報

## 【特許文献 11】

特開平 07-233191 号公報

## 【特許文献 12】

特許 2732056 号明細書

## 【0007】

## 【発明が解決しようとする課題】

本発明は、血管を拡張する作用を有し、それによって血液循環を改善して肩凝り、冷え性、頭痛、疲労、更年期障害を抑制または軽減し、新陳代謝を促進する新規素材を提供することを目的とし、さらにかかる作用を有する健康食品、医薬品を提供することを目的とする。

## 【0008】

## 【課題を解決するための手段】

本発明者は、各種タンパク質を加水分解して得たペプチド類を主体とする成分を、ウサギの耳の血管を用いてスクリーニングした結果、これらのペプチド類に血管を拡張する効果が存在することを見出した。すなわち、各種タンパク質の酸またはアルカリによる加水分解、および／または酵素プロテアーゼによる加水分解により得られるペプチド類を含む成分を、そのまま、または精製して、ウサギに経口投与して血管の拡張を確認した。

## 【0009】

これらのウサギの耳で認められた血管拡張は血流の増加に繋がり、その結果、血圧低下効果、肩凝り、冷え性および頭痛の改善効果、疲労回復効果、更年期障害の抑制および軽減効果、新陳代謝の促進による育毛効果、皮膚の状態改善効果など幅広い効果が確認された。

## 【0010】

このような効果が認められたタンパク質の加水分解物としては、大豆、胡麻な



どの植物性タンパク質の加水分解物、牛、豚など動物タンパク質の加水分解物、カツオ、サバ、サンマ、アジなど魚類タンパク質の加水分解物、ノリ、ワカメ、ヒジキ、コンブなどの海藻類、クロレラ、スピルリナなど微細藻類のタンパク質加水分解物、脱脂粉乳、ホエータンパク質の乳タンパク由来成分の加水分解物、牛肉、豚肉など畜産物由来タンパク質の加水分解物、牛コラーゲン、豚皮などブタコラーゲン、魚鱗など魚由来のコラーゲンタンパク質加水分解物が挙げられ、これらの加水分解物に含まれるペプチドに血管の拡張作用が存在することが認められた。

したがって本発明は、上記各種タンパク質の加水分解により得られたペプチドを有効成分とする血管拡張性医薬および健康食品組成物に関する。

#### 【0011】

本発明においてタンパク質の加水分解は、酸またはアルカリによる分解、プロテアーゼを用いる酵素分解が一般的に用いられる。酸またはアルカリは、有機、無機いずれの酸、アルカリを用いてもよく、酸加水分解の場合はpH1～4の範囲、アルカリ加水分解の場合はpH8～13の範囲が好ましい。分解時の温度、時間などの反応条件は適宜設定する。

#### 【0012】

プロテアーゼとしては、ペプシン、パンクレアチン、パパイン、プロレザー(天野製薬社製)、サモアーゼ(大和化成社製)、スミチームAP、スミチームMP、スミチームFP(いずれも新日本化学社製)、その他、一般的に用いられるプロテアーゼ活性を有する酵素を用いることができる。反応の際、酵素の使用濃度、反応のpHや反応温度、その他の条件などは、各酵素剤毎に最適な条件を選択すればよい。

#### 【0013】

酸、アルカリによる加水分解では、反応の進行を一定に調節することは必ずしも易しくはない。したがって厳密な反応管理が必要である。さらに、酸またはアルカリによる加水分解処理と酵素による加水分解を併用することができる。酸またはアルカリによる処理後、続いてタンパク分解酵素処理を行うことによって、ペプチドの低分子化が進み、低分子ペプチド類の比率が高まる。低分子のペプチ

ドは消化管で吸収され易く、血管拡張効果が高いので、このようにして低分子ペプチドの比率を高めることが望ましい。ただ、人の消化管内では高分子のペプチドも消化管のペプシン、トリプシン、およびペプチダーゼにより低分子ペプチドを生成するため、低分子以外のペプチドでも効果が認められる。しかし、低分子ペプチドの方が短時間で確実に効果の発現するものと考えられる。したがって、ペプチドの分子量については、低分子ペプチドの比率の高い方が望ましいが、食品として利用する場合は中、高分子ペプチドを含んでいても同様に血管拡張の効果が認められる。

#### 【0014】

各タンパク質の加水分解によって得られたペプチド成分は反応物をそのまま用いてもよいが、ペプチド成分を濃縮精製して用いてもよい。濃縮精製処理は、電気透析膜による脱塩処理、イオン交換樹脂による脱塩・濃縮処理、活性炭による脱色、脱臭および濃縮処理、有機溶媒による沈殿処理により行うことができる。それぞれの成分は液体のまま用いてもよいが、噴霧乾燥、凍結乾燥を施すことによって粉末化することもできる。また、クロマトグラフィーを用いて更に精製したものをを用いることもできる。

#### 【0015】

加水分解処理される各種タンパク質原料は精製されたタンパク質であることが望ましい。海藻類、植物材料、魚肉、ミルクタンパク質、動物肉、動物コラーゲンなど各種原料をそのまま用いることもできるが、原料に脂肪分が多い場合は、分解物中に脂肪分が残って酸化を受けるので、異臭、異味を発生したりすることが多い。したがって、予め油分を分離した原材料を利用することが望ましい。例えば、大豆、胡麻の場合は搾油後の油分の少ない大豆かすや胡麻かすを用いることが望ましい。また、加水分解後油分を除去することも可能ではある。魚肉、畜肉の場合も同様で脱油操作を加えることが重要である。それに対して海藻類を用いる場合は脂質成分が少ないために、脱脂を行うことなく藻類をそのまま加水分解に供し、加水分解後も脱脂操作を行うことは特に必要ない。

#### 【0016】

血管の拡張効果の確認はウサギの耳を用いて行った。すなわち、ウサギに試料

を経口投与し、耳の血管の変化を視覚的に確認し、その写真から面積計算ソフトを使って血管拡張の程度の数値化を行った。以下に示す実施例ではすべてこの方法により血管拡張効果を確認した。

#### 【0017】

本発明においては、タンパク質の加水分解物による血管の血管拡張の結果、血流が増加し、それによって栄養分の末端組織への移行が改善されると共に老廃物の移行も改善されるものと推定される。その結果、ヒトで肩凝り、頭痛、冷え性の抑制、軽減の目的に使用できる。また、血液循環の改善によって、循環器系のみならず神経系、内分泌系、免疫系の関係する生理機能の改善もはかられ、睡眠障害、更年期障害の抑制および改善を目的に使用できる。また、末梢組織からの炭酸ガス、乳酸その他老廃物の適宜な回収し、末梢組織への酸素、栄養成分の十分な供給されることから、疲労回復、さらには皮膚状態の改善、美容効果、育毛効果も得られる。これらの効果についてはヒトでの試験の結果を実施例として示した。

#### 【0018】

本発明の各種タンパク質加水分解物の使用態様としては、食品添加剤として一般食品に添加したり、健康食品組成物または医薬組成物として用いることができる。また、各種タンパク質の加水分解物の形態は、水溶液、懸濁物、粉末、固体成型物などいずれでもよく、特に限定されない。したがって、幅広い一般食品に添加使用出来るし、健康食品、医薬品としてはカプセル剤、錠剤、粉末剤、顆粒剤、ドリンク剤などとして提供される。その場合に単味成分として使用するのみならず、他の呈味成分、増量剤、安定剤、および生薬、ハーブなどの機能性素材およびその機能性成分と、また、ビタミン、ミネラルなど栄養成分、食品として許容される素材、原料などと混合、併用して用いることができる。

#### 【0019】

これらの効果を発揮させるためのヒトでの投与量はタンパク質加水分解物として0.5～2000mg/kg・日が好ましく、10～400mg/kg・日が更に好ましい。ただし、症状の種類、度合いには個人差があるため、かかる範囲に限定されるものではない。

## 【0020】

## 【発明の実施の形態】

以下に本発明の実施の態様を製造例、実施例を示し、説明する。

## (製造例1)

次の方法によって、アマノリ属海藻である海苔のタンパク質より海苔ペプチドを調製した。

## 【0021】

乾海苔 50 kg を 95℃ に加温した熱湯 950 リットルに懸濁し、1 時間煮沸後、煮汁を除去した。その後、50℃ の水 950 リットルを加え、硫酸で pH を 2.0 に調整し、ペプシン（天野製薬製）2 kg を加え、攪拌下 50℃ で 24 時間反応させた。得られた分解液を 1 N 水酸化ナトリウム溶液で pH 5.0 に調整し、50℃ に 10 分間保持してペプシンを失活させた。次に遠心分離（14000 r. p. m. で 20 分間）により抽出残さを除去し、上清液を濃縮した後に噴霧乾燥して海苔ペプシン分解物を得た（試料 1）。

## 【0022】

この海苔ペプシン分解物 1 kg を蒸留水に溶解し、塩酸で置換したバイオフッド社製Dowex-50(H<sup>+</sup>)カラム（φ 50 cm×200 cm）に負荷し、120 リットルの蒸留水で洗浄後、2 N アンモニア水にて吸着しているペプチドを溶出した。次に、エバポレーターにてアンモニア水を除去した後、凍結乾燥にて含量 90% の海苔ペプチド 385 g を得た（試料 2）。

## 【0023】

## (製造例2)

海苔粉末（10～50 メッシュ）2 kg に水 10 リットルを加えて攪拌後、自動らいかい機を用いて室温で 1 時間磨砕し、遠心分離して海苔抽出物残物と上清液とを分離する。

## 【0024】

得られた上清液にエタノールを添加して、-20℃ にて 12 時間放置してタンパク質成分を沈殿せしめ、遠心分離して沈殿物として水可溶性海苔タンパク質 400 g を得た。

## 【0025】

この海苔タンパク質に対して以下に示すように酸加水分解と酵素分解とを併用して行い、低分子ペプチドを調製した。すなわち海苔タンパク質 200 g を 1 N 塩酸溶液 1 リットルに溶解し、100℃にて2時間加温して酸分解を行った。次に水酸化ナトリウムで pH 6.0 に調整した後、スミチーム FP（日本化学工業社製）を 5 g 添加し、40℃にて8時間分解を行った。分解液を 100℃にて20分間保持して酵素を失活させ、減圧濃縮後、製造例 1 の試料 2 と同様に処理し、海苔ペプチド 160 g を得た（試料 3）。

## 【0026】

（製造例 3）

若芽タンパクから若芽ペプチドを以下のようにして調製した。乾燥若芽 1 kg を粉碎して 35 メッシュに微粉化し、蒸留水 20 リットルに懸濁して湿式磨砕機により磨砕した。これを遠心分離して若芽タンパク質含有溶液 5 リットルを得た。次いで 1 リットルに減圧濃縮後、8 リットルのエタノールを添加し、-20℃で 12 時間放置し、タンパク質を沈殿させた。これを遠心分離し、得られた沈殿物を室温で風乾後、水溶性若芽タンパク質 100 g を得た。

## 【0027】

この若芽タンパク質 50 g をリン酸緩衝液（pH 7.7）500 ml に溶解して、サーモライシン 2.5 g を加え、40℃にて 12 時間反応させてタンパク質の加水分解を行った。反応後 100℃に 20 分間保持して酵素を失活させた後、反応液を凍結乾燥して若芽ペプチド 35 g を得た（試料 4）。

同様な処理により昆布ペプチド（試料 5）、ヒジキペプチドが得られた（試料 6）。

## 【0028】

（製造例 4）

クロレラペプチド、スピルリナペプチドを以下のようにして調製した。クロレラ粉末、スピルリナ粉末それぞれ 50 g を 0.5 N 水酸化ナトリウム 1 リットルに溶解し、80℃にて 5 時間加温してアルカリ分解を行った。次いで、塩酸にて中和後、塩酸で置換した Dowex-50（H<sup>+</sup>）カラム（φ 10 cm×65 cm）に負荷し

、5リットルの蒸留水で洗浄後、2Nアンモニア水で吸着しているペプチドを溶出した。さらに、エバポレーターでアンモニアを除去した後、凍結乾燥してクロレラペプチドを21g（試料7）、スピルリナペプチドを18g（試料8）得た。

#### 【0029】

##### （製造例5）

植物由来のタンパク質加水分解物の例として、脱脂大豆かす、および脱脂胡麻かすから大豆ペプチド、胡麻ペプチドを得た。すなわち、脱脂大豆かす、脱脂胡麻かすそれぞれ1kgを粉碎し、それぞれ5リットルの水に懸濁後、硫酸でpHを2.0に調整し、ブタ胃由来のペプシン（天野製薬製）40gを加えて攪拌下50℃、24時間反応させた。反応後、固形物を濾過分離して得た上清を製造例1と同様にDowex-50（H<sup>+</sup>）に吸着させ、水洗、アンモニア溶出、アンモニア除去、濃縮、凍結乾燥の操作を行い、大豆ペプチド200g（試料9）、胡麻ペプチド98g（試料10）を得た。

#### 【0030】

##### （製造例6）

魚肉由来のタンパク質加水分解物の例としてカツオ、サバ、サンマ、アジの魚肉からそれぞれのペプチドを得た。新鮮なカツオ、サバ、サンマ、アジの各魚肉部分500gをそれぞれ採取し、すり身にして1リットルの水を加え100℃で10分間保持して熱変性させた。pHを硫酸でpH2.0に調整し、ペプシン（天野製薬製）をそれぞれ20g加え、50℃に16時間保った。反応終了後水酸化ナトリウム水でpHを5.0にして50℃、10分間加熱して酵素を失活させた。反応液を遠心分離して得た上清をそれぞれDowex50（H<sup>+</sup>）に吸着させ、十分に水洗後、2Nアンモニア水で溶出してペプチド区分を得た。ペプチド溶液は減圧濃縮し、アンモニアを除去した後、凍結乾燥した。以上の操作により、カツオ由来ペプチド30g（試料11）、サバ由来ペプチド32g（試料12）、サンマ由来ペプチド45g（試料13）、アジ由来ペプチド33g（試料14）をそれぞれ得た。

#### 【0031】

## (製造例 7)

畜乳由来のタンパク質加水分解物の例として、脱脂粉乳、ホエーから以下のようにしてそれぞれのペプチドを得た。市販の脱脂粉乳、および市販の分離ホエータンパク 1 kg をそれぞれ温水 2 リットルに懸濁させ、pH 7.5 に調整後、それぞれにサモアーゼ(大和化成社製) 40 g を加え、50℃で 16 時間反応させた。反応後 100℃で 10 分加熱して酵素を失活させた後、Dowex 50 (H<sup>+</sup>) に吸着させ、水洗、アンモニア水溶出によりペプチド区分を得た。減圧濃縮してアンモニアを除去後、凍結乾燥して脱脂粉乳ペプチド 270 g (試料 15)、分離ホエータンパクペプチド 333 g (試料 16) を得た。

## 【0032】

## (製造例 8)

畜肉由来タンパク質の加水分解物の例として、牛肉、ブタ肉から以下のようにしてそれぞれのペプチドを得た。

油の少ない牛肉 1 kg をミンチにしたものを 1N 塩酸 2 リットルに加え、100℃、2 時間加熱する。冷却後、水酸化ナトリウムで pH 2.0 に調整後、ブタ胃由来ペプシン(天野製薬製) 40 g を加え、50℃、16 時間攪拌反応させた。反応終了後、水酸化ナトリウムで pH 5.0 に中和し、50℃に 10 分間保ち酵素を失活させた。反応液は遠心分離(3000 r. p. m. 10 分間)して、上清液を分離した。上清中の油層を出来るだけ取り除き、Dowex 50 (H<sup>+</sup>) に負荷し、十分水洗後、2N アンモニア水で溶出してペプチド画分を得た。減圧濃縮してアンモニアを除去後、凍結乾燥して牛肉由来ペプチド 343 g (試料 17) を得た。豚肉由来ペプチド 318 g も上記と全く同様にして得た(試料 18)。

## 【0033】

## (製造例 9)

コラーゲンの加水分解物の例として、豚皮由来の膠および魚鱗から以下のようにして各ペプチドを得た。

市販の豚皮由来の膠 2 kg を粉碎し、塩酸酸性 pH 3.0 の水 4 リットルに懸濁し、室温で 3 日間攪拌する。その後、塩酸で pH 2 に調整してブタ胃由来ペプシン(天野製薬製) 40 g を添加し、50℃で 16 時間保持した。反応後水酸化ナトリウム

でpH5.0に調整し、50℃で10分間保持して酵素を失活させた。その後、遠心分離した上清液をDowex50 (H<sup>+</sup>) カラムに吸着させ、水洗後、2Nアンモニア水で溶出しペプチド画分を得た。ペプチド溶出液は減圧濃縮後、凍結乾燥して膠由来のコラーゲンペプチド720g (試料19) を得た。

#### 【0034】

また、市販の魚鱗由来の50%コラーゲン溶液1リットル(タイムリー社製)を用いて上記した方法と同様にペプシンによる分解、陽イオン交換樹脂による精製、凍結乾燥による粉末化を行い、魚鱗由来のコラーゲンペプチド265g (試料20) を得た。

#### 【0035】

次に、上記製造例で得られた各試料の血管拡張効果を確認した実施例および使用例を示す。

##### (実施例1)

体重1.5～1.8kgの9週齢の雄ウサギ (S1c: JW・CSK) を1週間予備飼育後、実験に供した。飼育室は温度22℃±1℃、湿度50%、12時間サイクルの明暗周期とし、餌はLab Diet 5L95 (日本SLC社製) を自由摂餌させ、水も自由に与えた。なお、試料を与える前は2時間絶食させた。体重1kg当たり試料1000mgを3～10mlの生理食塩水に溶かし、経口ゾンデで強制摂取させた。

#### 【0036】

ウサギの耳の血管状態測定は次のようにして行った。ウサギを採血箱に固定後、ウサギが落ち着き、耳血管の変化が見られなくなった時点でデジタルカメラで撮影し、この時点を0分とした。試料を摂取後10分後から写真撮影を開始し、血管の拡張が沈静化するまで10分おきに撮影を続けた。得られた写真を面積計算ソフトLIA32で面積計算を行い、数値化した。

#### 【0037】

以上の測定を、製造例1から製造例9で得た試料1～20について行い、結果をグラフ化して図1～図7に示した。図はタテ軸に測定血管断面積を0分の場合を1として数値化したものを示し、その時間経過後の変化を図示したものである



。その結果、いずれの試料を用いてもウサギの耳血管拡張作用のあることが認められた。

#### 【0038】

##### (実施例 2)

試料 1 を 75 重量% 含み、還元麦芽糖水飴 15%、デキストリン 5.8%、クエン酸 0.9%、香料 2.3%、甘味料（ステビア）1.0% を含む顆粒剤とし、1.2 g ずつ分包して製品とした。また、試料 1 を 88 重量%、還元麦芽糖 9%、蔗糖脂肪酸エステル 3% 含む 300 mg 重量の錠剤を製造した。

#### 【0039】

##### (実施例 3)

試料 2 ～ 20 をそれぞれ 80%、還元麦芽糖水飴 10%、デキストリン 7%、蔗糖脂肪酸エステル 3% (いずれも重量%) 含む 300 mg 重量の錠剤をそれぞれ製造した。

#### 【0040】

##### (実施例 4)

実施例 2 の顆粒剤を用いて肩凝りに悩む 20 名のボランティアに毎日朝夕 1 包ずつ、1 日 2 包を 30 日間服用してもらった。30 日終了後に各ボランティアからアンケートを採った。その結果を表 1 に示した。その結果、70% の人の肩凝りが解消または軽減し、効果がみられた。

#### 【0041】

【表 1】

症状	人数
肩凝りが解消した	5
肩凝りが軽減した	9
変わらなかった	6
肩凝りが酷くなった	0

#### 【0042】

##### (実施例 5)

実施例 3 の試料 2 を含む錠剤を用いて肩凝りに悩む 10 名のボランティアに毎日 6 錠剤を 30 日間服用してもらった。30 日終了後に各ボランティアからアンケート

トを採った。その結果を表 2 に示した。その結果 60%の方に肩凝りの解消または軽減が認められた。

【0043】

【表 2】

症状	人数
肩凝りが解消した	2
肩凝りが軽減した	4
変わらなかった	4
肩凝りが酷くなった	0

【0044】

(実施例 6)

実施例 3 の試料 3 を含む錠剤を用いて肩凝りに悩む 10 名のボランティアに毎日 6 錠剤を 30 日間服用してもらった。30 日終了後に各ボランティアからアンケートを採ったところ、肩凝りの解消した人は 3 人、軽減した人が 3 人、他の 4 人は変わらなかった。

【0045】

(実施例 7)

実施例 2 の錠剤を用いて冷え性に悩む 20 才から 40 才の 20 名の女性ボランティアに毎日 6 錠剤を 2 週間服用してもらい、2 週間後アンケートを採った。その結果を表 3 に示した。13 人に冷え性が解消または改善がみられた。

【0046】

【表 3】

症状	人数
冷え性が解消した	3
冷え性が軽減した	10
変わらなかった	7
冷え性が酷くなった	0

【0047】

(実施例 8)

実施例 3 に記載した試料 10 を含む錠剤を用いて冷え症に悩む 20 才から 40 才の 10 名の女性ボランティアに毎日 6 錠剤を 2 週間服用して貰い、2 週間後アン

ケートを採った。その結果を表 4 に示した。その結果、6 人に冷え症の解消、改善が認められた。

【0048】

【表 4】

症状	人数
冷え性が解消した	2
冷え性が改善した	4
変わらなかった	4
冷え性が酷くなった	0

【0049】

(実施例 9)

実施例 2, 3 に記載した試料 1 ~ 20 を含む錠剤を服用した後の指先の温度を測定した。試験は実施例 7 のボランティアの中で冷え症の解消、または軽減の効果のあった人から 10 人のボランティアを選び、複数日にわたって試験した。試験は朝食抜きで、20℃、湿度 50% に調整した部屋に入って 1 時間経過後から行い、試料 1 ~ 20 を含むそれぞれの錠剤 6 錠を水 50 ml と共に服用して、手指先温度の変化を服用 30 分経過後サーミスタ温度計で測定し、0 時間からの上昇温度で表記した。なお、1 試料について 2 人のボランティアが試験し、その平均値を記録した。

【0050】

【表 5】

試料	上昇温度(℃)	試料	上昇温度(℃)
1	0.3	11	0.5
2	0.5	12	0.2
3	0.4	13	0.1
4	0.3	14	0.3
5	0.2	15	0.3
6	0.1	16	0.4
7	0.5	17	0.5
8	0.4	18	0.4
9	0.4	19	0.2
10	0.5	20	0.2

## 【0051】

## (実施例10)

実施例2の顆粒剤を用いて偏頭痛のある15名のボランティアに毎日2包を30日間服用してもらい、30日後にアンケートを回収した。その結果は表6に示したように8名の方に頭痛の解消または軽減が認められた。

## 【0052】

【表6】

症状	人数
頭痛が解消した	2
頭痛が軽減した	6
変わらなかった	7
頭痛が酷くなった	0

## 【0053】

## (実施例11)

更年期性高血圧症を有する55才から63才までの5人の女性に実施例2の顆粒剤を毎日2包、30日間服用してもらった。なお、いずれの人も本剤と共に卵胞ホルモンを併用した。その結果、いずれの人も血圧が正常範囲に下がり、さらに卵胞ホルモンのみを使った場合と比較して身体が暖まるという感想を得た。また、更年期障害の軽減も認められた。

## 【0054】

## (実施例12)

スポーツ選手5人に1500mを全力で走ってもらい、走る前および走った後5分後の血液を採取し、血中の乳酸値を測定した。翌日、実施例2の顆粒剤2包を服用後、1500mを全力で走り、前日と同じように血中の乳酸値を計測した。その結果を表7に示した。顆粒剤を服用しなかった場合に比較して、顆粒剤を服用した場合、いずれの選手も走った後の血中乳酸値の減少が見られた。

## 【0055】

【表 7】

血中乳酸値 (mmol/l)				
	顆粒剤服用なし		顆粒剤服用あり	
	走る前	走った後	走る前	走った後
A	1.0	10.5	1.1	9.0
B	1.1	10.8	1.0	8.3
C	0.9	11.1	1.0	7.8
D	1.1	12.1	0.9	7.6
E	1.2	12.3	1.2	8.1

【0056】

(実施例 13)

30才から35才までの女性20人に実施例2の錠剤6錠を服用してもらい、1ヶ月後の皮膚症状の変化を自己評価（複数項の回答を可とした）してもらった。その結果次の皮膚改善効果が認められた。

【0057】

血色が良くなった（14）、皮膚の艶が良くなった（12）、皮膚の潤いが向上した（9）、皮膚のざらつきが無くなった（9）、化粧が乗りやすくなった（8）、皮膚の弾力性が向上した（7）。

【0058】

(実施例 14)

30才から35才までの女性10人に実施例3の試料4を含む錠剤6錠を服用してもらい、1ヶ月後の皮膚症状の変化を自己評価（複数項回答）してもらった。その結果、次の皮膚改善効果が認められた。

血色が良くなった（7）、皮膚の艶が良くなった（6）、皮膚のざらつきが無くなった（4）、皮膚の潤いが向上した（4）、化粧が乗りやすくなった（3）

(実施例 15)

抜け毛の多いと感じる男性20人に実施例2の顆粒剤を1日2包3ヶ月間服用してもらい、抜け毛の変化について質問した。その結果、抜け毛の減少を自覚した人が8人、毛が太くなったという人が7人あった。

【0059】

【発明の効果】

本発明によれば、海藻由来のタンパク質、植物由来のタンパク質、魚類由来のタンパク質、ミルクタンパク質、動物由来のタンパク質、コラーゲン様タンパク質等の、各種タンパク質を加水分解して得られたペプチドを含有する組成物を医薬および健康食品に用いることによって、血管拡張効果を奏することができ、それにより肩凝り、頭痛、冷え症およびそれに関連する機態低下症状を抑制、改善することができる。

**【図面の簡単な説明】**

**【図 1】**

ウサギの耳について行なった海藻由来ペプチドの血管拡張作用の実験データを示すグラフ。

**【図 2】**

ウサギの耳について行なった海藻由来ペプチドの血管拡張作用の実験データを示すグラフ。

**【図 3】**

ウサギの耳について行なった植物由来ペプチドの血管拡張作用の実験データを示すグラフ。

**【図 4】**

ウサギの耳について行なった魚類由来ペプチドの血管拡張作用の実験データを示すグラフ。

**【図 5】**

ウサギの耳について行なった乳類由来ペプチドの血管拡張作用の実験データを示すグラフ。

**【図 6】**

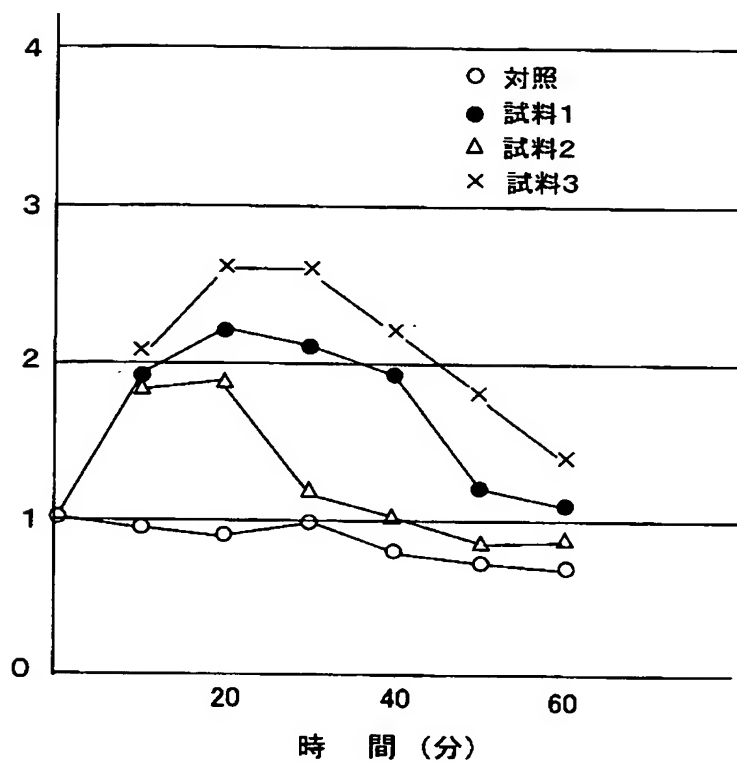
ウサギの耳について行なった動物類由来ペプチドの血管拡張作用の実験データを示すグラフ。

**【図 7】**

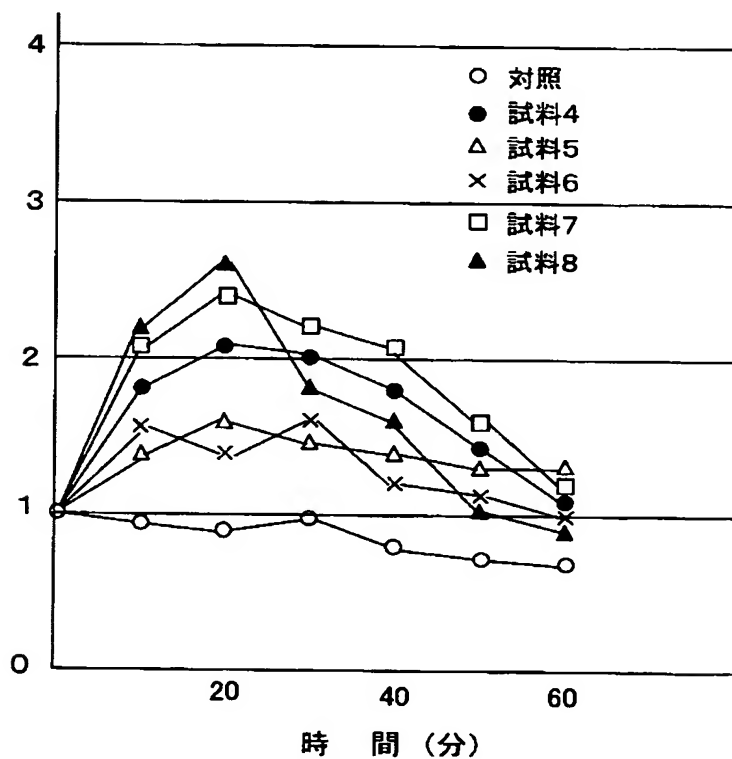
ウサギの耳について行なったコラーゲン由来ペプチドの血管拡張作用の実験データを示すグラフ。

【書類名】 図面

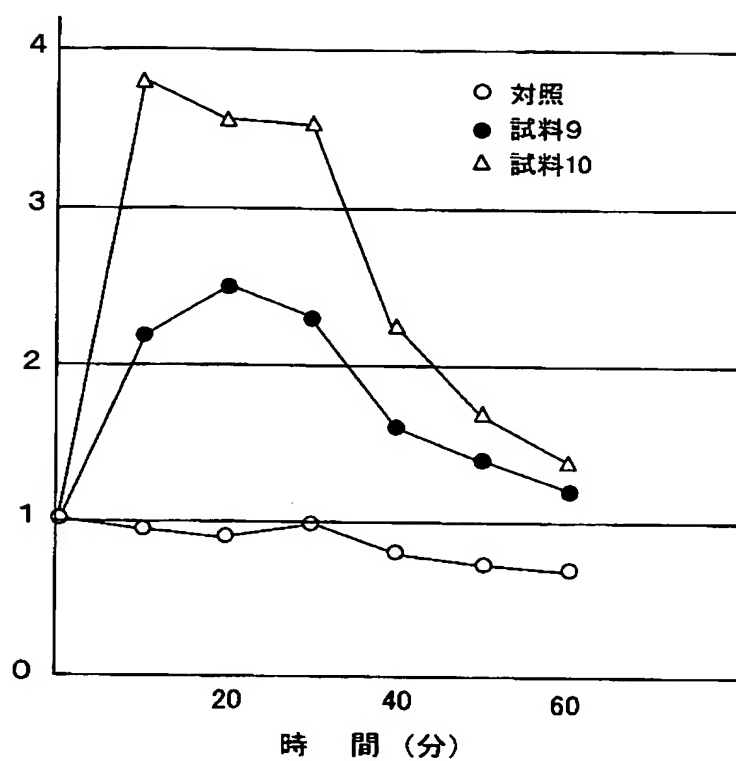
【図 1】



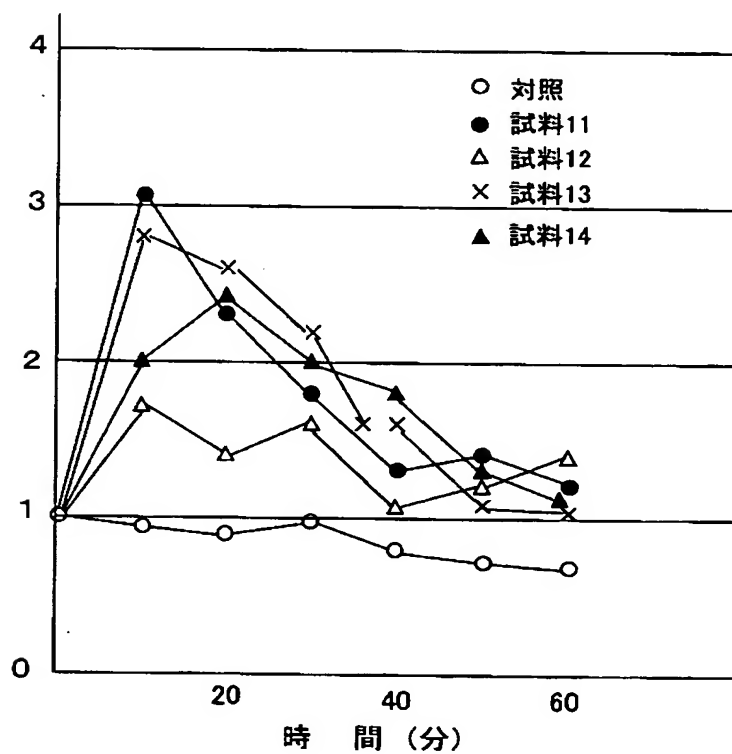
【図 2】



【図 3】

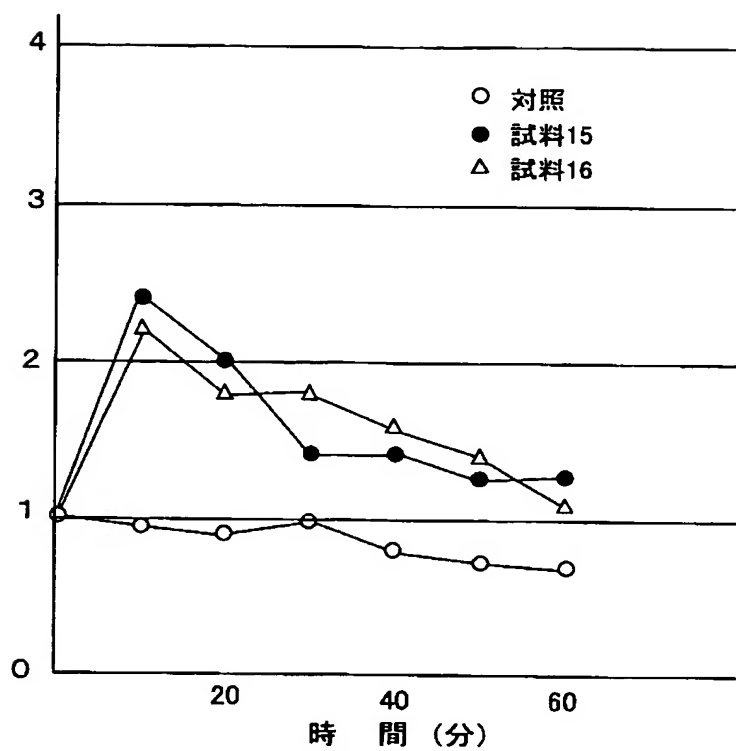


【図 4】

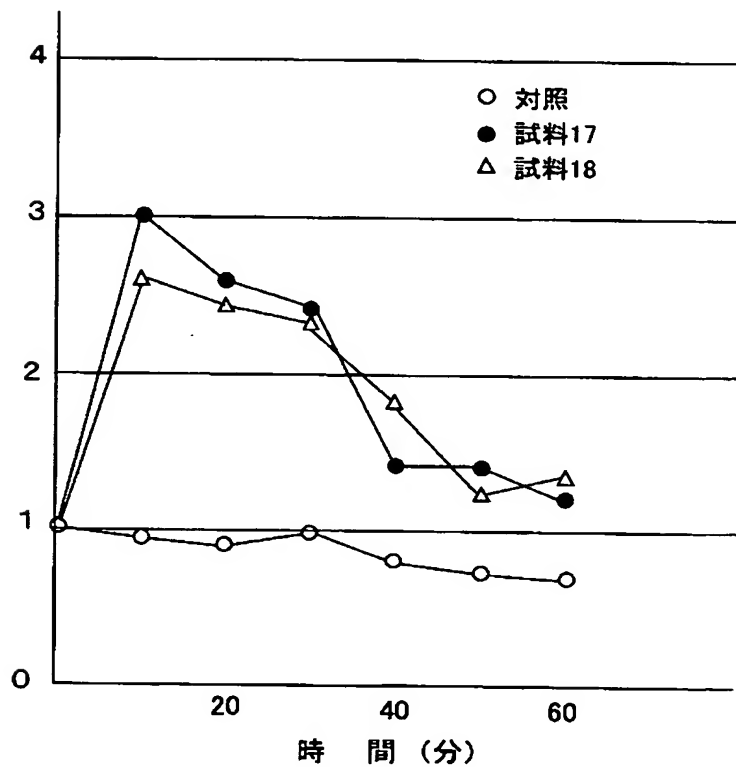




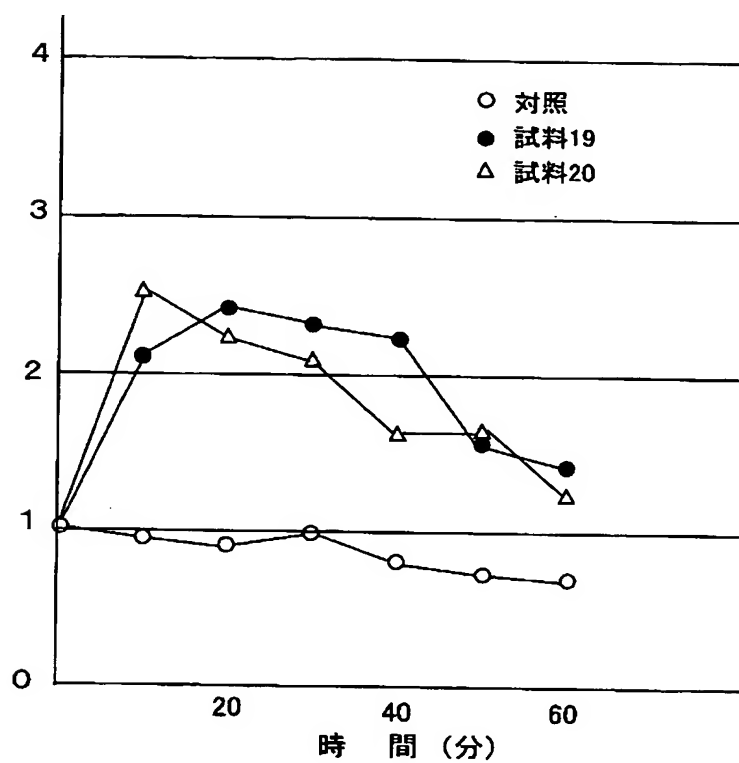
【図 5】



【図 6】



【図 7】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 血管を拡張する作用を有し、それによってヒトの各種疾病、障害を抑制または軽減する新規素材を提供する。

【解決手段】 海苔、ワカメ、ヒジキ、コンブ、クロレラ、スピルリナから選ばれた海藻由来のタンパク質、大豆、胡麻から選ばれた植物由来のタンパク質、カツオ、サバ、サンマ、アジから選ばれた魚類由来のタンパク質、脱脂粉乳、ホエーから選ばれた各種ミルクタンパク由来のタンパク質、牛、豚、から選ばれた動物由来のタンパク質、牛各部コラーゲン、豚皮コラーゲン、魚鱗由来のコラーゲン様タンパク質、等のタンパク質を加水分解して得られるペプチドを有効成分とする組成物を医薬組成物および健康食品組成物として用いることによって、血管拡張効果を奏せしめ、それによって血流性低下に伴う肩凝り、頭痛、冷え症等の各種症状を抑制、改善する。

【選択図】 図 1

特願 2 0 0 3 - 0 3 5 0 6 3

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[ 3 9 1 0 1 7 9 8 6 ]

1 . 変更年月日

1 9 9 1 年    2 月    4 日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都江戸川区中葛西 7 丁目 5 番 9 号

氏 名

株式会社白子